

مهندسی متالورژی و مواد

https://jmme.um.ac.ir/



سنتز نانوذرات اکسید دوظرفیتی مس به‌روش احتراق در محلول و بررسی خواص ضدباکتریایی آن در برابر گونه‌های باکتریایی گرم مثبت و منفی*

مقاله پژوهشی

وصال هلالی[۱] مصطفی میرجلیلی[۲] سید عبدالکریم سجادی[۳] مریم مقدم متین[٤] محمدحسن ملائی[۵]

DOI: 10.22067/jmme.2023.80250.1090

چکیده در این پژوهش، تأثیر نسبت سوخت بر سنتز نانوذرات CuO به‌روش احتراق در محلول و خواص ضدباکتریایی آن بررسی شد. به‌عنوان سوخت از هگزامتیلن‌ترامین در نسبت برابر با ۱ و ۱< استفاده شد و مشخصه‌یابی به‌روش‌های پراش اشعه ایکس (XRD)، سنجش اندازه ذرات به‌کمک پراش نور دینامیک (DLS)، تصویربرداری به‌کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FE-SEM) برای هر نمونه انجام شد. نتایج XRD نشان داد که در نسبت ۱، بیشترین خلوص CuO در ترکیب نهایی حاصل شد. همچنین اندازه ذرات تماماً در گستره ۲۱/۷ تا ٤۲/۲ نانومتر قرار داشت. اما کوچکترین اندازه ذره (۲۱/۷ نانومتر) متعلق به نمونه سنتز شده در نسبت ۱ بود. از آن جا که تصاویر FE-SEM مربوط به این نمونه نیز مبیّن ساختاری ریزدانه و کروی بود، این نمونه برای انجام آزمون ضدباکتریایی انتخاب شد. سوسپانسیون نانوذرات این نمونه، در سه محلول نوترینت براث، آب و DMSO تهیه شد. پس از آن، هر سه سوسپانسیون در برابر گونه‌های باکتریایی Escherichia coli و Staphylococcus aureus مورد آزمون ضدباکتریایی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که باکتری E. coli (گونه گرم منفی) درمقایسه با S. aureus (گونه گرم مثبت) بیشتر مهار شد. همچنین مهار هر دو باکتری در سوسپانسیون نوترینت براث-CuO بیشتر بود. برای این سوسپانسیون، حداقل غلظت مهاری باکتری‌های E. coli و S. aureus به‌ترتیب ۱۰۵ و ۲٤۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. این امر احتمالاً با پراکنده‌سازی بهتر نانوذرات در نوترینت براث (نسبت به دو محلول دیگر) مرتبط است؛ لذا می‌توان با افزودن مواد فعال سطحی، پراکنده‌سازی ذرات و درنتیجه قدرت مهار آن‌ها را بهبود بخشید.

واژه های کلیدی نانوذرات CuO، سنتز احتراقی در محلول، خواص ضدباکتریایی، E. coli، S. aureus

Synthesis of CuO Nanoparticles Via Solution Combustion and Assessment of its Antibacterial Properties Against Gram-Positive and -Negative Bacterial Strains

Vesal Helali Mostafa Mirjalili Seyed Abdolkarim Sajjadi Maryam M. Matin Mohammad Hasan Mollaei

Abstract *This work aims to investigate the effect of fuel ratio on the synthesis of CuO nanoparticles via solution combustion and evaluation of its antibacterial properties. Hexamethylenetetramine was considered as fuel and used in different ratio. The final products were characterized by XRD, DLS, FE-SEM analysis. The XRD results indicated that the highest quantity of CuO was found in fuel ratio equal to1. Based on particle size analysis results, all particles were in the range of 21.7 to 42.2 nms. Also, the finest particle size (21.7nm) was attributed to the sample in fuel ratio equal to 1. Since the FE-SEM image of this specimen showed a spherical fine morphology, this specimen was chosen for antibacterial tests. In order to trace the second aim of this study, chosen specimen was tested against Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacterial strains while suspended in nutrient broth, water and DMSO. The results revealed higher inhibition of E. coli (gram-negative strain) comparing to S. aureus (gram-positive strain) in all cases. Also, the CuO-nutrient broth appeared to be the suspension with the highest inhibitory for both bacterial strains. The Minimum inhibitory concentration of nanoparticles in this suspension are 105 and 242 µg/mL for E. coli and S. aureus. This could be related to the better dispersion of nanoparticles in nutrient broth solution. Therefore, it could be suggested that adding surfactants to suspension, can enhance the inhibition of bacterial strains.*

Key words CuO nanoparticles, Solution combustion synthesis, Antibacterial properties, E. coli, S. aureus.

* تاریخ دریافت مقاله ۱٤۰۱/۱۰/۵ و تاریخ پذیرش ۱٤۰۱/۱۲/۲۰می‌باشد.

(۱) کارشناس ارشد مهندسی مواد و متالورژی، گرایش شناسایی و انتخاب مواد مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

(۲) نویسنده مسئول: استادیار، گروه مهندسی متالورژی و مواد دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

Email: mirjalili@um.ac.ir

(۳) استاد، گروه مهندسی متالورژی و مواد دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

(٤) استاد، گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

(۵) فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد زیست‌شناسی، گرایش بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

مقدمه

نانومواد (Nanomaterials)، دسته‌ای از مواد با ابعاد نانومتری (۱۰۰–۱ nm) تلقی می‌شود که به‌دلیل نسبت سطح به حجم بالا، اندازه ذرات کوچک، پراکندگی بسیار خوب در محلول‌ها و مورفولوژی مطلوب، در سالیان اخیر مورد تحقیقات بسیاری قرار گرفته‌اند. در میان انواع نانومواد، نانوذرات فلزی و اکسیدی به‌دلیل کاربرد گسترده در زمینه‌هایی مانند کاتالیست‌ها، الکتروشیمی، بیولوژی و غیره، مورد توجه بسیاری قرار گرفته‌اند [1-3].

برای سنتز نانومواد، روش‌های متعددی به‌کار می‌رود. از جمله این روش‌ها می‌توان به فرآیندهای رسوب شیمیایی، هیدروترمال، روش‌های بر پایه سل–ژل و استخراج عصاره گیاهی اشاره کرد. از میان این روش‌ها، فرآیندهای مبتنی بر احتراق، مانند سنتز خوداحتراقی پیش‌رونده (-Self-propagating high) SHS (temperature synthesis) و سنتز احتراقی در محلول SCS (Solution combustion synthesis))، نسبت به سایر فرآیندها از مزایای بیشتری برخوردارند. این مزایا شامل هزینه کم، انرژی و سرعت بالای فرآیند و شکل نهایی مطلوب ذرات (ذرات یکنواخت و همگن با نسبت سطح به حجم بالا) می‌باشد [4-9].

در بسیاری از مطالعات، تأثیر نوع و میزان سوخت مورد استفاده در فرآیند سنتز (به‌روش احتراق در محلول)، بر محصولات نهایی مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این تحقیقات حاکی از آن است که با افزایش نسبت سوخت به اکسیدکننده از حالت استوکیومتری واکنش، شرایط سیستم احیایی می‌شود. با این حال، با افزایش میزان سوخت از یک حد معین، اکسیژن هوا با مس موجود در سیستم وارد واکنش شده و شرایط اکسیداسیون مجدد را ترغیب می‌کند [10-11].

با گذشت زمان، برخی از باکتری‌ها تغییر یافته و در برابر آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاوم شده‌اند. به‌همین‌روی، استفاده از نانومواد با خواص ضدباکتریایی، جهت مهار این نوع ریزسازواره‌ها، به‌شدت مورد توجه قرار گرفته است. برخی از این نانوذرات شامل نقره، مس، دی‌اکسیدتیتانیم و نانولوله‌های کربنی می‌باشند. اکسیدهای مس نیز –برخلاف آن‌که اغلب به‌عنوان فوتوکاتالیست‌های مؤثر شناخته می‌شوند– در پاره‌ای از تحقیقات، قادر به غیرفعال‌سازی باکتری‌ها بوده‌اند. این اکسیدها به‌دلیل مقاومت و قدرت بالاتر مهار باکتری نسبت به مواد آلی، و هم‌چنین طول عمر بالا، برای کاربرد در محیط‌های میکروبی، مناسب تلقی می‌شوند [12-15].

در سالیان اخیر، تأثیر بسیاری از مؤلفه‌ها نظیر اندازه ذرات و ریزساختار بر خواص ضدباکتریایی نانوذرات اکسید مس بررسی شده است. بر پایه نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که اندازه ذرات کوچکتر برای کاربرد در زمینه مهار باکتری مناسب‌تر می‌باشد. هم‌چنین ریزساختار صفحه‌ای و کروی بهترین عملکرد را دربرابر باکتری‌ها داشته است [16-18].

عملکرد نانوذرات CuO در برابر سلول‌های باکتریایی، به کاهش یون های Cu^{+2} به Cu^{+1} و در نتیجه ایجاد نوعی تنش برمی‌گردد که منجر به تخریب غشای سلولی می‌شود [18,19].

در این تحقیق، ابتدا تأثیر نسبت سوخت به اکسیدکننده بر سنتز CuO به‌روش احتراق در محلول و با استفاده از هگزامتیلن‌ترامین به‌عنوان سوخت بررسی شد. هر نمونه از نظر ترکیب، اندازه ذره و ریزساختار مورد مطالعه قرار گرفت تا نمونه مطلوب انتخاب شود. سپس سوسپانسیون نمونه منتخب در سه محلول نوترینت براث (Nutrient Broth) ، آب و (Dimethyl sulfoxide with the formula $(CH_3)_2SO$.) DMSO تهیه شد. در نهایت هر سه سوسپانسیون در برابر گونه‌های باکتریایی گرم مثبت و منفی مورد آزمون قرار گرفت. بنابراین علاوه‌بر تفاوت عملکرد نانوذرات در مهار گونه‌های باکتریایی مختلف، تأثیر نوع محلول مورد استفاده در تهیه سوسپانسیون نیز بر قدرت مهاری باکتری‌ها آشکار شد.

مواد و روش تحقیق

مواد مورد استفاده و نحوه انجام سنتز. در پژوهش حاضر از نیترات مس سه‌آبه ($Cu(NO_3)_2.3H_2O$>99.5%, Loba Chemie) به‌عنوان اکسیدکننده و هگزامتیلن‌ترامین ($C_6H_{12}N_4$>99.7%, Loba Chemie) به‌عنوان سوخت استفاده شد. نسبت ظرفیت‌های احیایی به اکسیدی واکنشگرها به‌صورت نسبت ϕ تعریف شد که براساس آن ϕ=۱ نسبت استوکیومتری، ϕ<۱ نسبت کم-سوخت و ϕ>۱ نسبت پرسوخت درنظرگرفته شدند [20]. مقادیر مطلوب از هر پیش‌ماده (نیترات و سوخت) براساس مقادیر ϕ مورد نظر جدول (۱) در حداقل حجم آب دیونیزه (حدوداً ٦ الی ۷ ml) حل شد و مخلوط حاصل روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد تا به محلولی یکنواخت بدل شود. سپس جهت ایجاد دمای اولیه لازم برای انجام واکنش احتراق، محلول حاصل روی هات–پلیت با دمای ۳۰۰ °C قرار گرفت.

جدول ۱ نسبت‌های سوخت به اکسیدکننده مورد استفاده و مقادیر پیش‌ماده برای هر واکنش

φ	واکنش شیمیایی	مقادیر پیش ماده (g)
۱	$Cu(NO_3)_2.3H_2O + 0.2778\ C_6H_{12}N_4 = CuO + 1.54\ N_2 + 1.667\ CO2 + 4.667\ H_2O$	$Cu(NO_3)_2.3H_2O$:۳/۰۳۷ $C_6H_{12}N_4$:۰/٤۸۹
۱/۰۹	$Cu(NO_3)_2.3H_2O + 0.3055\ C_6H_{12}N_4 = 0.5\ Cu_2O + 1.611\ N_2 + 1.833\ CO2 + 4.833\ H_2O$	$Cu(NO_3)_2.3H_2O$:۳/۳۷٦ $C_6H_{12}N_4$:۰/۵۹۸
۱/۱۸	$Cu(NO_3)_2.3H_2O + 0.33\ C_6H_{12}N_4 = Cu + 1.667\ N_2 + 1.98\ CO2 + 5\ H_2O$	$Cu(NO_3)_2.3H_2O$:۳/۸۰۱ $C_6H_{12}N_4$:۰/۷۳۵
۱/۲٦	$Cu(NO_3)_2.3H_2O + 0.35\ C_6H_{12}N_4 = Cu + 1.667\ N_2 + 2\ CO2 + 5\ H_2O + 0.016\ C_6H_{12}N_4$	$Cu(NO_3)_2.3H_2O$:۳/۸۰۱ $C_6H_{12}N_4$:۰/۷۷۲
۲/۳۷	$Cu(NO_3)_2.3H_2O + 0.66\ C_6H_{12}N_4 = Cu + 1.667\ N_2 + 2\ CO2 + 5\ H_2O + 0.326\ C_6H_{12}N_4$	$Cu(NO_3)_2.3H_2O$:۳/۸۰۱ $C_6H_{12}N_4$:۱/٤۷۰

باکتری‌های مورد استفاده در آزمون ضدباکتریایی. باکتری‌های مورد استفاده در آزمون ضدباکتریایی، E. coli ATCC25922 و S. aureus ATCC25923 بودند.

مشخصه‌یابی نمونه‌های سنتزشده. در این پژوهش، دمای آدیاباتیک (T_{ad}) واکنش‌های سنتز، به‌کمک نرم افزار HSC Chemistry 9.0 محاسبه گردید. هم‌چنین آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD) توسط دستگاه Explorer GNR با طیف Kα مس از زاویه ۲۰ تا ۸۰ درجه صورت گرفت. ابعاد ذرات به‌کمک پراش نور دینامیک (DLS) با استفاده از دستگاه Cordouan VASCO3 اندازه‌گیری شد. تصویربرداری از ریزساختار با کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM) توسط دستگاه TESCAN BRNO-Mira3 LMU انجام شد. درنهایت، سوسپانسیون نمونه منتخب در نوترینت براث، آب و DMSO تهیه و هر سوسپانسیون به‌صورت جداگانه در برابر دو گونه باکتریایی *E. coli* و *S. aureus* ، به‌روش تهیه سری رقت براث (Broth dilution method) با استفاده از ظرف کشت ۹٦ خانه‌ای مورد آزمون قرار گرفت.

تهیه سوسپانسیون CuO با سه محلول متفاوت. هر سوسپانسیون از نانوذرات، در یک محلول خاص به‌صورت جداگانه تهیه شد: ۱- سوسپانسیون CuO-B حاوی ۲ mg نانوذره در ۲ ml نوترینت براث (غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)،۲- سوسپانسیون CuO-D حاوی ٤۰ mg نانوذره در ۱ ml DMSO (غلظت ٤۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و ۳- سوسپانسیون CuO-W حاوی آب، با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر.

هر سه سوسپانسیون بر این اساس تهیه شدند که غلظت نانوذرات در چاهک اول پلیت، ۲۰۰ μg/mL باشد. تفاوت غلظت سوسپانسیون CuO-D با دو مورد دیگر، به‌دلیل سمّیت DMSO برای سلول‌های باکتریایی می‌باشد. به‌طوری‌که میزان محلول DMSO در چاهک اول، باید کمتر از ۰/۵٪ باشد تا تأثیر آن بر سلول‌های باکتریایی به حداقل برسد. این بدان معناست که این سوسپانسیون باید با غلظتی تهیه می‌شد که تنها ۱ μg/ml از آن وارد چاهک اول شود اما در عین حال، غلظت نانوذرات در این چاهک، ثابت (۲۰۰ μg/ml) باقی بماند [21,22].

استریل کردن وسایل مورد استفاده در آزمون ضدباکتریایی. تمامی تجهیزات و وسایل مورد استفاده در آزمون ضدباکتریایی که به دما حساس نباشند در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ °C، در معرض بخار آب به‌مدت ۲۰ دقیقه استریل شد تا از ورود هر گونه آلودگی به محیط آزمایش خودداری شود.

روش پراکنده‌سازی نانوذرات. هر سه سوسپانسیون حاوی CuO، در ابتدا به‌مدت ۲٤ ساعت روی هم‌زن مغناطیسی قرار گرفتند. پس از آن به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک در دمای اتاق، نگهداری شدند تا تعلیق و پراکندگی نانوذرات در سوسپانسیون صورت پذیرد.

آماده‌سازی باکتری‌ها. در این روش، ابتدا به‌منظور تلقیح باکتری، با استفاده از لوپ فیلدوپلاتین (Fildoplatin Loop)، یک کلونی از هر دو باکتری از محیط نوترینت آگار به محیط نوترینت براث

منتقل شد و سوسپانسیون‌های باکتری به‌مدت ٢٤ ساعت در شیکر انکوباتور (Incubator shaker) با دمای ٣٧ $^\circ$C و دورrpm ٢٠٠ گرم‌خانه‌گذاری (Incubated) شد. سپس کدورت سوسپانسیون باکتریایی، براساس استاندارد تیم مک فارلند (0.5 MC Farland standard) تنظیم شد که طبق این استاندارد تعداد باکتری برابر با CFU/mL ^{٨}١٠× ١/٥ می‌باشد [23].

آزمون ضدباکتریایی به‌روش تهیه سری رقت براث. در هر ظرف کشت، ٤ گروه در نظر گرفته شد: ١-چاهک‌های حاوی نانوذره به‌همراه باکتری در محیط کشت، ٢-چاهک‌های حاوی نانوذره و محیط کشت به‌عنوان بلانک (Blank)، ٣-چاهک‌های حاوی محیط کشت به‌همراه باکتری (کنترل مثبت) و ٤-چاهک‌های حاوی محیط کشت (کنترل منفی).

در ابتدا به هر ٤ گروه از چاهک‌ها، محیط کشت (نوترینت براث) اضافه شد. سپس از هر سه سوسپانسیون نانوذرات، ٦ سری رقت حاوی غلظت‌های ٦/٢٥ تا ٢٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به چاهک‌های گروه ١ و ٢ افزوده شد. پس از آن، ١٠µl از سوسپانسیون‌های باکتری به‌طور یکسان به چاهک‌های گروه ١ و ٣ افزوده شد تا حجم نهایی هر چاهک به ١٠٠µl برسد. پس از اتمام این مراحل، ظروف در گرم‌خانه با دمای ٣٧ $^\circ$C به‌مدت ٢٤ ساعت نگهداری شدند. پس از پایان گرمخانه-گذاری، جذب هر چاهک در طول موج ٦٢٥ نانومتر با استفاده از دستگاه (ELISA Reader (Awareness start fax 2100 اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

محاسبه دمای آدیاباتیک. بررسی جنبه‌های ترمودینامیکی، همواره راهنمای مطلوبی در راستای بررسی پیشرفت یا عدم پیشرفت واکنش‌ها بوده است. سنتز احتراقی در محلول، یک واکنش گرمازا می‌باشد. اگر از اتلاف گرما، حین فرآیند احتراق صرف‌نظر شود، حداکثر دمای سیستم در حالت بی‌دررو، به‌عنوان دمای آدیاباتیک سیستم (T_{ad}) درنظرگرفته می‌شود. نحوه محاسبه این دما به‌صورت تئوری، از رابطه(١) محاسبه می‌شود:

$$-\Delta H_f^\circ = \int_{T0}^{Tad} \sum Cp(products)dT \qquad (١)$$

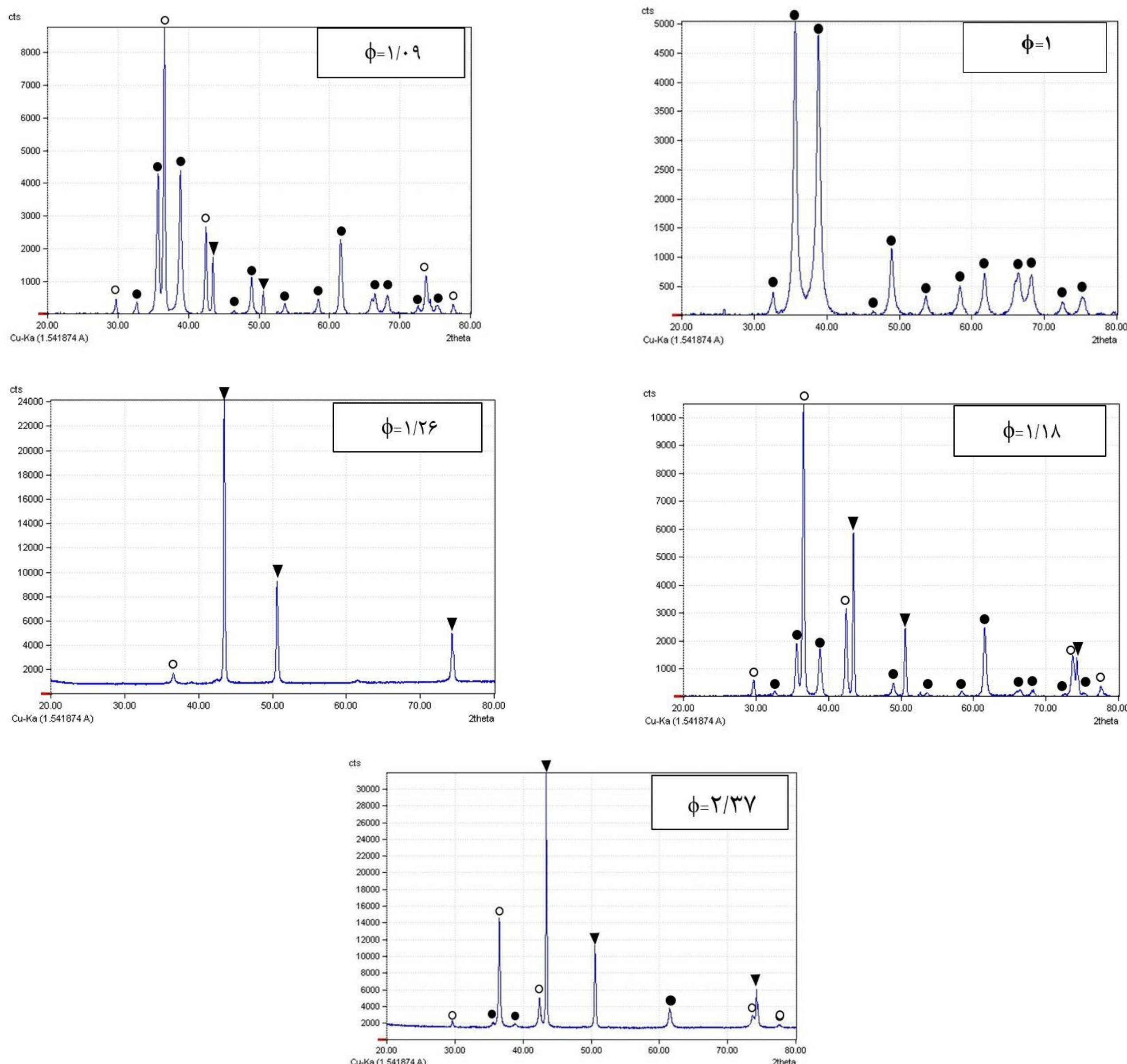
C_p ظرفیت گرمایی ویژه‌ی محصولات، ΔH_f° آنتالپی استاندارد واکنش، T_{ad} دمای آدیاباتیک و T_0 دمای اولیه است. جدول(٢)، دماهای آدیاباتیک محاسبه شده برحسب مقدار ϕ را نشان می‌دهد.

جدول ٢ دماهای آدیاباتیک محاسبه شده برحسب مقدار ϕ

ϕ	دمای آدیاباتیک (K)
١	١٤٩٢
١/٠٩	١٥٨٠
١/١٨	١٥٥٥
١/٢٦	١٥٣٩
٢/٣٧	١٢٨٩

بیشترین مقدار دمای آدیاباتیک، مربوط به نمونه با ١/٠٩= ϕ می‌باشد چرا که آنتالپی این واکنش نسبت به سایر واکنش‌ها، منفی‌تر است. با افزایش یا کاهش میزان سوخت مصرفی، دمای آدیاباتیک سیستم کاهش پیدا می‌کند. توجه به این نکته ضروری است که دمای آدیاباتیک تئوری همواره از حالت عملی بیشتر است؛ چرا که خروج محصولات گازی حین احتراق، موجب انتقال و اتلاف گرمای حاصل از واکنش خواهد شد.

تحلیل نتایج آنالیز پراش پرتو ایکس(XRD). آنالیز پراش اشعه ایکس، با استفاده از الگوی تفرق منحصربه‌فرد هر ماده، امکان شناسایی ترکیب محصولات سنتز را فراهم می‌نماید. نتایج این آزمون به‌صورت شدت پیک برحسب زاویه تفرق به‌دست آمده و با استفاده از نرم‌افزار HighScore Plus تحلیل شده است. هر الگو با کارت‌های استاندارد (Joint committee on powder (JCPDS diffraction standards شماره‌های (00-048-1548)، (00-005-0667) و (00-004-0836) به‌ترتیب مربوط به CuO، Cu_2O و Cu خالص کریستالی تطابق داده می‌شود. شکل (١)، الگوهای پراش اشعه ایکس هر نمونه را نشان می‌دهد. فازهای CuO، Cu_2O و Cu به‌ترتیب با علائم ●، ○ و ▼علامت‌گذاری شده‌اند.



شکل ۱ الگوهای پراش اشعه ایکس محصولات سنتز در نسبت ϕ ۱برابر با ۱، ۱/۰۹، ۱/۱۸، ۱/۲۶ و ۲/۳۷.

هم‌چنین نسبت فازهای موجود در هر ترکیب، به‌صورت جدول (۳) به‌دست آمده است. همان‌طور که مشخص است، با افزایش ϕ ابتدا شرایط واکنش ِحیایی شده و ترکیب فازهای سنتزشده به سمت مس فلزی می‌رود. با رسیدن به ϕ=۱/۲۶، بیشترین میزان فاز مس فلزی در ترکیب مشاهده شد. با این حال با افزایش بیشتر این نسبت، به‌دلیل افزایش میزان سوخت باقی‌مانده در سیستم، دمای آدیاباتیک و در نتیجه آن، سرعت واکنش‌های احتراق کاهش می‌یابد. بنابراین زمان باقی ماندن مس در دمای بالا افزایش یافته و احتمال اکسیداسیون آن به فاز Cu_2O وجود خواهد داشت. ممکن است این پرسش ایجاد شود که چرا در ۱/۱۸ و ϕ=۱/۰۹ –که به‌ترتیب نسبت ϕ مربوط به واکنش‌های استوکیومتری Cu_2O و Cu می‌باشند– به‌جای این دو فاز، ترکیبی از سه فاز CuO، Cu_2O و Cu حاصل شده است؟ پاسخ به این سوال، مرتبط با تبخیر بخشی از سوخت در سیستم، پیش از احتراق بوده که در این حالت، شرایط از مقدار مورد انتظار اکسیدی‌تر شده و لذا مقادیری از CuO در ترکیب مشاهده خواهد شد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که برای سنتز CuO، باید مقدار ϕ را برابر با ۱ قرار داد چراکه نمونه ϕ=۱ به‌طور تقریبی دارای بیشترین مقدار فاز CuO می‌باشد.

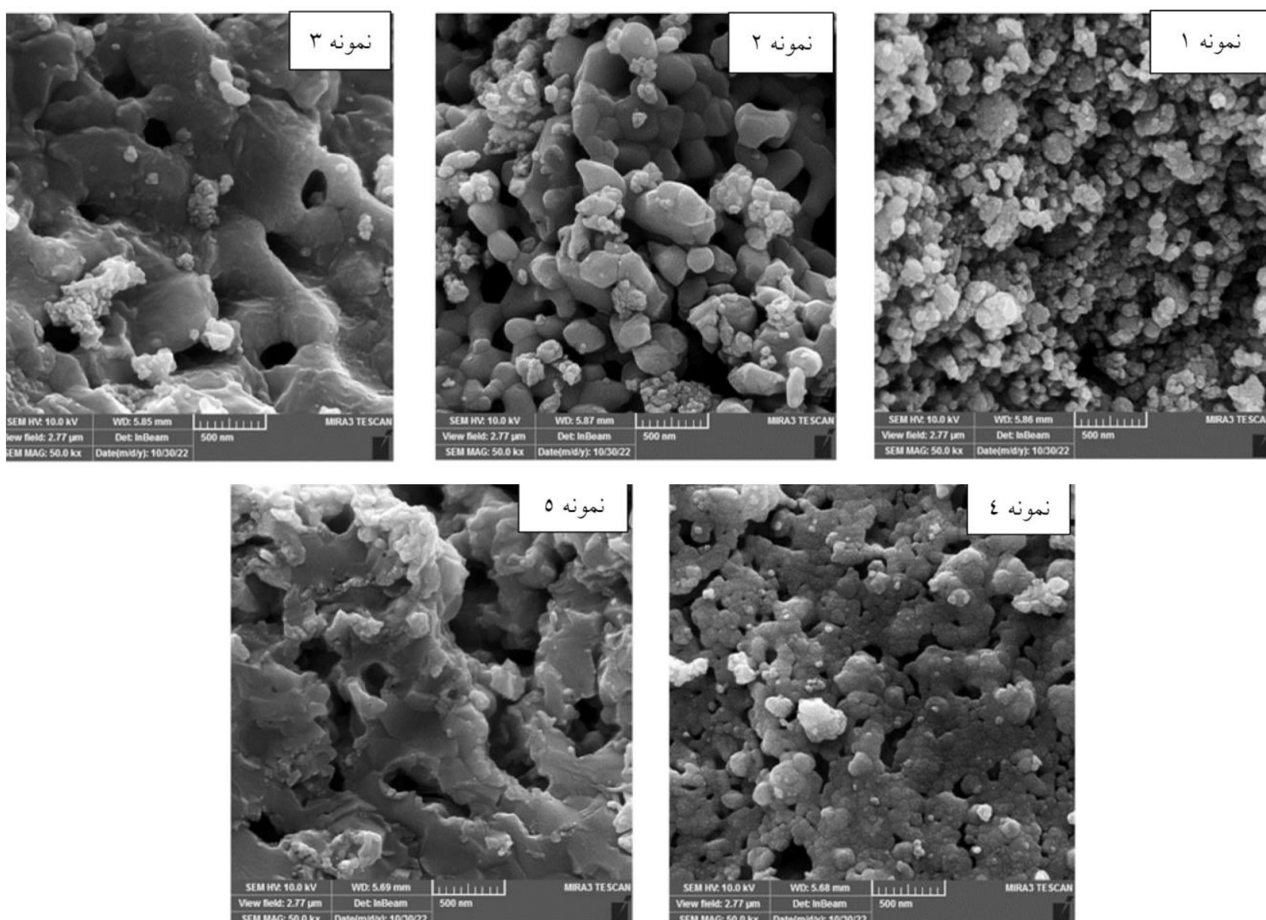
جدول ۳ ترکیب فازهای موجود در هر نمونه

ϕ	ترکیب فازها
۱	CuO
۱/۰۹	CuO (غالب) + Cu_2O + Cu
۱/۱۸	CuO + Cu_2O + Cu
۱/۲٦	Cu (غالب) + Cu_2O
۲/۳۷	Cu_2O + Cu + CuO (ناچیز)

اندازه‌گیری ابعاد ذرات به‌کمک پراش نور دینامیک (DLS). اندازه‌گیری ذرات پودر نمونه‌های سنتزشده دو نتیجه مهم را به‌دست می‌دهد. اولاً آن‌که آیا نمونه‌های سنتزشده می‌توانند نانوذره تلقی شوند؟ و ثانیاً آیا پارامتر ϕ، بر ابعاد ذرات حاصل از سنتز تأثیرگذار است؟ میانگین اندازه ذرات برای تمامی نمونه‌ها، در جدول (٤) نمایش داده شده است. مطابق نتایج به‌دست آمده در این بخش، کوچکترین اندازه ذرات متعلق به نمونه با ۱=ϕ و بزرگترین آن مربوط‌به نمونه چندفازی با ۱/۱۸=ϕ می‌باشد. هم‌چنین مشاهده می‌شود که با افزایش ϕ، اندازه ذرات در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا می‌کند. در واقع با افزایش میزان مس در محصولات، اندازه ذرات افزایش یافته که در ۱/۱۸=ϕ به حداکثر مقدار خود رسیده و در ۲/۳۷ و ۱/۲٦=ϕ، با تشکیل Cu_2O دوباره کاهش پیدا می‌کند. علت این امر نقطه ذوب پایین مس بوده که می‌توان انتظار داشت رشد ذرات مس حین احتراق، بیش از فازهای اکسیدی ترغیب شود.

جدول ٤ نتایج آنالیز اندازه ذرات به‌کمک پراش نور دینامیک

ϕ	میانگین اندازه ذرات (nm)
۱	۲۵/۸
۱/۰۹	۳۸/۷
۱/۱۸	٤۲/۲
۱/۲٦	۳۵/۷
۲/۳۷	۳٦/۲



شکل ۲ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی محصولات سنتز در نسبت ϕ ابرابر با ۱، ۱/۰۹، ۱/۱۸، ۱/۲٦ و ۲/۳۷.

تصاویر حاصل از آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FE-SEM). شکل(۲)، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی را نشان می‌دهد. تصویر نمونه با ۱=ϕ بعد از نرم‌ساب تهیه شده است و تصاویر مابقی نمونه‌ها بدون نرم‌ساب شدن آورده شده است. همانطور که مشخص است این نمونه تنها از یک فاز تشکیل شده است و دارای ریزساختار کروی و ریزدانه می‌باشد. در سایر نمونه‌ها با ϕ برابر با ۱/۱۸، ۱/۲۶ و ۲/۳۷، ریزساختار به‌صورت زمینه پیوسته -که احتمال می‌رود مس فلزی باشد- بوده و اکسیدهای مس به‌صورت کلوخه شده روی این زمینه، پراکنده شده‌اند. همچنین مشاهده می‌شود که با افزایش ϕ، میزان تخلخل در نمونه‌ها کاهش یافته است.

نتایج آزمون ضدباکتریایی به‌صورت حداقل غلظت مهاری (MIC(Minimum Inhibitory Concentration)). یکی از شیوه‌های گزارش نتایج آزمون ضدباکتریایی به‌روش تهیه سری رقت براث، محاسبه حداقل غلظت مهاری (MIC) می‌باشد. MIC به‌عنوان حداقل غلظتی از نانوذرات که در آن باکتری هیچ رشدی ندارد، تعریف می‌شود. نتایج MIC، برای هر سه سوسپانسیون و در برابر هر دو گونه باکتریایی به‌صورت جدول(۵) گزارش شده است.

جدول ۵ مقادیر MIC سوسپانسیون‌های نمونه با ۱=ϕ در آب، DMSO و نوترینت براث در برابر گونه‌های باکتریایی *E. coli* و *S. aureus*

گونه‌های باکتریایی	MIC		
	CuO-W	CuO-D	CuO-Br
E. coli	۲۱۸	۲۲۹	۱۰۵
S. aureus	۵۹۳	۶۲۳	۲۴۲

همانگونه که از نتایج این آزمون پیدا ست، در تمامی موارد، نانوذرات CuO در مهار *E. coli* قدرتمندتر عمل نموده‌اند که این امر احتمالاً به‌دلیل تفاوت ساختار سلولی این دو گونه باکتریایی می‌باشد [24,25].

احتمال می‌رود که تفاوت نتایج آزمون ضدباکتریایی این سه سو سپانسیون، به میزان پراکنده سازی نانوذرات در هر محلول برگردد. در واقع باید گفت که پراکندگی بهتر نانوذرات در بسیاری از تحقیقات و مطالعات، به‌نفع خاصیت ضدباکتریایی و قدرت مهار نانوذرات بوده است؛ زیرا که میزان پراکنده‌سازی نانوذرات، بر برهم‌کنش آن‌ها با باکتری تأثیرگذار است [26,27].

پراکندگی نانوذرات اکسید مس در DMSO بیش از آب و نوترینت براث (محلول پایهٔ آبی) می‌باشد؛ لذا انتظار می‌رود که این ترکیب آلی نسبت به دو محلول دیگر پراکنده‌سازی بهتری ایجاد نماید. با این حال همانطور که پیشتر نیز بیان شد، سمّیت این محلول برای سلول‌های باکتریایی، ایجاب نمود که این سوسپانسیون به کمتر از ۰/۵ درصد رقیق شود. بنابراین در این حالت به‌دلیل رقّت بالای DMSO، پراکندگی ذرات در این سوسپانسیون با سوسپانسیون‌های حاوی آب و نوترینت براث تفاوت چندانی نخواهد داشت. مقایسه بین سوسپانسیون آب و نوترینت براث نشان داد که میزان پراکنده‌سازی ذرات در نوترینت براث بیشتر از آب بوده است. بنابراین بهترین محلول برای پراکنده‌سازی نانوذرات، نوترینت براث و ضعیف‌ترین آن‌ها، DMSO تشخیص داده شد (در برابر هر دو گونه باکتریایی). بدین‌ترتیب می‌توان احتمال داد که مهار بیشتر باکتری توسط نانوذرات به پراکنده‌سازی بهتر آن‌ها در این سوسپانسیون‌ها مرتبط باشد [22,28].

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، تأثیر نسبت سوخت (ϕ) بر سنتز نانوذرات CuO به‌روش احتراق در محلول با استفاده از سوخت هگزامتیلن‌تترامین در ϕ برابر با ۱ و ۱<، بررسی شد. سپس نمونه با بیشترین میزان CuO در ترکیب، ریزترین اندازه‌ی دانه و ریزساختار کروی برای انجام آزمون ضدباکتریایی انتخاب شد. پس از آن اثرات مهاری این نمونه، بر رشد گونه‌های باکتریایی مختلف، در سه سوسپانسیون مورد مطالعه قرار داده شد. نتایج نشان داد که با افزایش ϕ ابتدا شرایط، احیایی شده و فاز مس فلزی تولید می‌شود. با این حال در نسبت‌های بیشتر از ۱/۲۶=ϕ، به‌دلیل کاهش دمای آدیاباتیک سیستم و کُند شدن واکنش‌ها، مس فلزی اکسید شده و میزان فاز Cu_2O در سیستم افزایش پیدا می‌کند. نتایج اندازه‌گیری اندازه ذرات نشان داد که تمامی ذرات در گستره ابعاد نانومتری قرار داشته لیکن با افزایش ϕ، ابتدا اندازه‌ی ذرات افزایش و سپس کاهش پیدا می‌کند. این امر با میزان مس فلزی موجود در ترکیب نهایی محصولات سنتز مرتبط است. هم‌چنین ریزساختار نانوذرات CuO تقریباً خالص، کروی و ریزساختار مس فلزی به‌صورت زمینه‌ای به‌هم‌پیوسته مشاهده شد. بنابراین احتمال دارد که نانوذرات اکسیدهای چندفازی به‌صورت ذرات کلوخه شده روی زمینه آن به‌وجود آمده باشند. هم‌چنین افزایش

ϕ، باعث کاهش تخلخل‌های موجود در ریزساختار محصولات شده است. بررسی نتایج آزمون ضدباکتریایی نشان داد که نانوذرات CuO در مهار باکتری‌های گرم منفی، در مقایسه با گونه‌های گرم مثبت قدرتمندتر عمل نمودند که این امر احتمالاً به‌دلیل ساختار سلولی متفاوت این دو گونه باکتریایی‌ست. احتمال می‌رود عملکرد بهتر سوسپانسیون CuO-B در برابر هر دو گونه باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی به پراکنده‌سازی بهتر نانوذرات در این نمونه مرتبط باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود جهت افزایش قدرت مهاری در برابر گونه‌های باکتریایی، افزودن مواد فعال سطحی به سوسپانسیون حاوی نانوذرات سودمند باشد. هم‌چنین یافتن محلول‌هایی که قدرت پراکنده‌سازی بیشتر از نوترینت براث داشته باشند بر قدرت مهار موثر خواهد بود.

تقدیر و تشکر

مراجع

[1] P. Biswas, C. Y. Wu, "Nanoparticles and the environment" *Journal of Air and Waste Management Association*, vol. 6, no. 55, pp. 708-746, 2003.

[2] M. De, P. S. Gosh, and V. M. Rottelo, "Application of Nanoparticles in Biology." *Advanced Materials*, vol. 20, no. 22, pp. 4225-4241, 2008.

[3] C. M. Welsh, R. G. Compton, "The use of Nanoparticles in Electroanalysis: a review." *Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 384, no. 3, pp. 601-619, 2006.

[4] M. E. Grigore, E. R. Biscu, A. M. Holban, and M. C. Gestal, "Methods of synthesis, properties and biomedical applications of CuO nanoparticles." *Journal of Pharmaceuticals*, vol. 9, no. 4, pp. 75-89, 2016.

[5] J. Singh, G. Kaur, and M. Rawat, "A brief review on synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and it’s application." *Journal of Bioelectronics and Nanotechnologies*, vol. 1, no. 9, pp. 1-9, 2016.

[6] E. Carlos, R. Martines, E. Fortunato, and R. Branquinho, "Solution Combustion Synthesis: towards a sustainable approach for metal oxides." *Chemistry-A Europian Journal*, vol. 26, no. 42, pp. 9099-9125, 2020.

[7] A. Kumar, E. E. Wolf, and A. S. Mukasyan, "Solution Combustion Synthesis of Metal Nanopowders: Copper and Copper/Nickel Alloys." *Journal of American Institute of Chemical Engineers*, vol. 57, no. 12, pp. 3473-3479, 2011.

[8] H. Nasiri, J. V. Khaki, and S. M. Zebarjad, "one- step fabrication of Cu-Al_2O_3 nanocomposite via solution combustion synthesis route." *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 509, no. 17, pp. 5305-5308, 2011.

[9] G. R. Rao, B. G. Mishra, and HR Sahu, "Synthesis of CuO, Cu and CuNi alloy particles by solution combustion using carbohydrazide and N-tertiarybutoxy-carbonylpiperazine fuels." *Material Letters*, vol. 58, no. 27-28, pp. 3523-3527, 2004.

[10] K. B. Podbolotov, A. A. Khort, A. B. Tarasov, G. V. Trusov, S. I. Roslyakov, and A. S. Mukasyan, "Solution Combustion Synthesis of Copper Nanopowders: The Fuel Effect." *Journal of Combustion Science and Technology*, vol. 189, no. 11, pp. 1878-1890, 2017.

[11] C. Xu, K. V. Manukyan, R. A. Adams, V. G. Pol, P. Chen, and A. Varma, "One-step solution combustion synthesis of CuO/Cu_2O/C anode for long cycle life." *Carbon*, vol. 142, pp. 51-59, 2019.

[12] A. Bouafia, S. E. Laouini, and M. R. Ouahrani, "A review on Green Synthesis of CuO Nanoparticles using Plant extract and evaluation of Antibacterial activity." *Journal of Research in Chemistry*, vol. 13, no. 1, pp. 65-70, 2020.

[13] Y. N. Slavin, J. Asnis, U. O. Hafeli, and H. Bach, "Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity." *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 15, no. 1, pp. 1-20, 2017.

[14] O. Akhavan, R. Azimirad, S. Safa, and E. Hasani, "CuO/Cu$(OH)_2$ hierarchical nanostructures as bactericidal photocatalysts ." *Journal of Materials Chemistry*, vol. 21, no. 26, pp. 9634-9640, 2011.

[15] I. Preleshtein, G. Applerot, N. Perkas, E. Wehrschuetz-Sigl, A. Hasmann, G. Gubitz, and A. Gedanken, "CuO-cotton nanocomposites : Formation, morphology, and antibacterial activity." *Surface and Coating Technology*, vol. 204, no. 1-2, pp. 54-57, 2009.

[16] A. Azam, A. S. Ahmed, M. Oves, M. S. Khan, and A. Memic, "Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacterial strains." *International Journal of Nanomedicine*, vol. 21, no. 26, pp. 3527-3535, 2012.

[17] A. Ananth, S. Dharaneedharan, M. S. Heo , and Y. S. Mok, "Copper oxide nanomaterials: Synthesis, characterization, and structure-specific antibacterial performance. "*Chemical Engineering Journal*, vol. 262, pp. 179-188, 2015.

[18] S. Meghana, P. Kabra, S. Chakraborty, and N. Padmavathy, " Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles ." *Journal of Chemical Society Advances*, vol. 5, no. 16, pp. 12293-12299, 2015.

[19] D. Das, B. C. Nath, P. Phukon, and S. Dolui, "Synthesis and evolution of antioxidant and antibacterial behavior of CuO nanoparticles." *Jounal of Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, vol. 101, pp. 430-433, 2013.

[20] S. R. Jain, K. C. Adiga, and V. R. P. Verneker, "A new approach to thermomechanical calculation of condensed fuel-oxidizer mixtures." *Combustion and Flame*, vol. 40, pp. 71-79, 1981.

[21] T. Wadhwani, K. Desai, D. Patel, D. Lawani, P. Bahaley, P. Joshi, and V. Kothari, "Effect of various solvents on bacterial groth in context of determining MIC of various antimicrobials." *The Internet Jounal of Microbiology*, vol. 7, no.1, pp. 1-8, 2009.

[22] J. J. Modrzynski, J. H. Christensen, and K. K. Brandt, "Evaluation of dimethyl sulfoxide (DMSO) as a co-solvent for toxicity testing of hydrophobic organic compounds." *Jounal of Ecotoxicology*, vol. 28, no. 9, pp. 1136-1141, 2019.

[23] P. Christofilogiannis, "Current inoculation methods in MIC determination." *Aquaculture*, vol. 196, no. 3-4, pp. 297-302, 2001.

[24] A. Godymchuk, G. Frolov, A. Gusev, O. Zakharova, E. Yunda, D. Kustensov, and E. Kolesnikov, "Antibacterial Properties of Copper Nanoparticle Dispersions: Influence of Synthesis Conditions and Physicochemical Characteristics." *Journal of Materials Science and Engineering*, vol. 98, no. 1, pp. 1-8, 2015.

[25] D. Megrian, N. Taib, J. Witwinowski, C. Beloin, and S. Gribaldo, "One or two membranes? Diderm Firmicutes challenge the Gram-positive/Gram-negative divide." *Jounal of Molecular Microbiology*, vol. 113, no. 3, pp. 659-671, 2020.

[26] K. C. Barabaszova, S. Holesova, M. Bily, and M. Hundakova, "CuO and CuO/vermiculite based nanoparticles in antibacterial PVAc nanocomposites." *Jounal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, vol. 30, no. 10, pp. 4218-4227, 2020.

[27] D. M. Aruguete, M. F. Hochella, "Bacteria-nanoparticle interactions and their environmental implications." *Jounal*

of Environmental Chemistry, vol. 7, no. 1, pp. 3-9, 2010.

[28] P. K. Yadav, C. Kochar, L. Taneja, and S. S. Tripathy, "Study on dissolution behavior of CuO nanoparticles in various synthetic media and natural aqueous medium." *Jounal of Nanoparticle Research*, vol. 24, no. 6, pp. 1-16, 2022.